

УДК 582.232: (58.036:581.19)

**ВМІСТ ФІКОБІЛПРОТЕЇНІВ У БІОМАСІ СИНЬОЗЕЛЕНОЇ
ВОДОРОСТІ *PHORMIDIUM AUTUMNALE* F. *UNCINATA* ЗА УМОВ
ЗМІНИ ТЕМПЕРАТУРИ КУЛЬТИВУВАННЯ**

**І. М. НЕЗБЕРИЦЬКА¹, А. В. КУРЕЙШЕВИЧ¹,
О. А. ВАСИЛЬЧЕНКО², А. Б. МИНЕНКО²**

¹ Інститут гідробіології НАН України, м. Київ

² Національний авіаційний університет, м. Київ

*Досліджено вплив температури на синтез фікобілпротеїнів синьозеленою водоростю *Phormidium autumnale* f. *uncinatum*. Виявлено суттєве збільшення вмісту С-фікоеретрину, С-фікоціаніну та аллофікоціаніну у біомасі водорості за температури 32°C. Мінімальні значення цих показників спостерігалися за температури 20°C.*

Ключові слова: синьозелені водорості, температурний режим, фікобілпротеїни, С-фікоеретрин, С-фікоціанін, аллофікоціанін.

Вступ. Протягом десятиліть водорості використовуються у якості сировини для отримання біологічно активних речовин. Одним із найбільш цікавих об'єктів дослідження є синьозелені водорості, або ціанобактерії, які за відсутністю відокремленого ядра схожі з бактеріями (тому їх ще називають ціанопрокаріоти – доядерні), а за наявністю хлорофілу *a* й здатністю синтезувати молекулярний кисень – з рослинами.

Хімічний склад біомаси різних видів синьозелених водоростей відрізняється високим вмістом протеїнів, в тому числі ферментів (23,0–82,6 % органічної частини), вуглеводів (6,6–70,0 %), ліпідів (2,0–12,0 %), до складу яких входять в основному поліненасичені жирні кислоти, а також досить

багатим комплексом вітамінів (груп В, С, А, Е, К), мінеральних речовин (залізо, магній, кальцій, йод, бор, цинк, мідь) [1].

Особливістю синьозелених водоростей є наявність фікобіліпротеїнів у складі світопоглинаючого комплексу пігментів. Фікобіліпротеїни – водорозчинні пігменти, які виявлені, крім синьозелених, у червоних та криптофітових водоростей [2]. Вони є білками-хромопротеїнами, простетичною групою яких є хромофори біліни, або фікобіліни – аналоги жовчних кислот [2–4].

Фікобілінові пігменти складаються з чотирьох пірольних кілець та мають вигляд розгорнутого ланцюга, який не містить металу. Вони поглинають світло у широкому діапазоні довжин хвиль в середині видимої ділянки спектру між основними областями поглинання хлорофілу [3] та передають його енергію основному пігменту фотосинтезу. Варто відмітити, що присутність фікобілінових пігментів дає перевагу синьозеленим водоростям щодо освоєння екологічних ніш, куди проникає жовто-зелена область сонячного спектра. Крім того, фікобіліпротеїни прийнято вважати «депо» білка у клітинах водоростей [5].

Із синьозелених водоростей виділені у кристалічному вигляді три фікобіліпротеїни, що відрізняються за спектрами поглинання світла. Два блакитних пігменти – фікоціанін та аллофікоціанін – мають максимуми світлопоглинання від 615 та 650 нм відповідно, фікоеритрини – пігменти червоного кольору – за довжини хвилі від 540 до 565 нм [6].

Фікобіліпротеїни широко використовують у харчовій промисловості. Фікоціаніни і фікоеритрини є найпоширенішими серед природних барвників, які випускаються промисловістю [7, 8]. Роль цих речовин зростає у зв'язку із застосуванням їх у фармакології, а також у медицині [7]. До комплексу фізіологічних ефектів, що викликаються С-фікоціаніном (фікобіліпротеїн ціанобактерій), можна віднести наступні: пригнічення проліферації пухлинних клітин, зниження концентрації фактора некрозу пухлини в тканинах, інгібування окисного стресу в організмі, запобігання перекисного окиснення

ліпідів, пошкодження ДНК, руйнування клітинних мембран і загибелі клітин [9]. Завдяки здатності накопичуватися в атеросклеротичних бляшках і новоутвореннях С-фікоціанін може застосовуватися в медицині для діагностичних цілей [9].

Збільшення інтенсивності біосинтезу фікобілінових пігментів синьозеленими водоростями є одним з актуальних завдань сучасної біотехнології. Регулювання біосинтезу пігментів мікроводоростей, динаміки росту культури можливо завдяки впливу фізичних факторів. Відомо, що одним із найважливих абіотичних чинників, що зумовлює вміст фікобіліпротеїнів у клітинах синьозелених водоростей, є температура. У роботі розглянуто динаміку накопичення фікобілінів у культурі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за дії різного температурного режиму культивування.

Мета роботи – визначити температурні умови, за яких накопичення фікобіліпротеїнів культурою *Phormidium autumnale* f. *uncinata* є максимальним.

Матеріал і методи досліджень. У дослідях використовували чисту культуру *Phormidium autumnale* f. *uncinata* HPDP-36, яка знаходилася на стаціонарній фазі росту. Водорість вирощували на середовищі Фітцджеральда №11 в модифікації Цендера і Горхема [10] за освітленості 3000 Лк (з чергуванням світлового та темного періодів 16:8) в умовах різних температурних режимів (20, 26 та 32 °C). Вміст фікобілінових пігментів визначали згідно методичних вказівок [10]. Водорості відділяли від культурального середовища фільтруванням. Наважку водоростей масою 0,5-1 г ретельно розтирали у ступці з додаванням кварцового піску. Розтерту масу заливали невеликим об'ємом дистильованої води (5–10 мл), доведеної розчином лугу до рН 7, та поміщали на 12 год на холод для кращої екстракції пігментів. Отриманий екстракт очищали від клітинної маси центрифугуванням. Концентрацію фікобіліпротеїнів – С-фікоеретрину, С-фікоціаніну та алофікоціаніну визначали спектрофотометричним методом за довжинах хвиль 565 нм, 620 нм та 650 нм [2].

Результати досліджень та їх обговорення. Визначали вплив різних температурних режимів культивування (20, 26 та 32 °C) на концентрацію пігментів фікобілінового ряду – С-фікоеритрину, С-фікоціаніну та алофікоціаніну в біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata*. У відповідь на дію температури 26 °C спостерігалось значне зростання концентрації досліджуваних пігментів у водорості у порівнянні з культивуванням за температури 20 °C. Так, концентрація С-фікоеритрину у клітинах ціанопрокаріоти за впливу даного температурного режиму підвищилася у 1,6 рази, а С-фікоціаніну та алофікоціаніну – у 1,7 та 1,6 рази відповідно відносно значень, що були зафіксовані за температури 20 °C (Рис. 1–3).

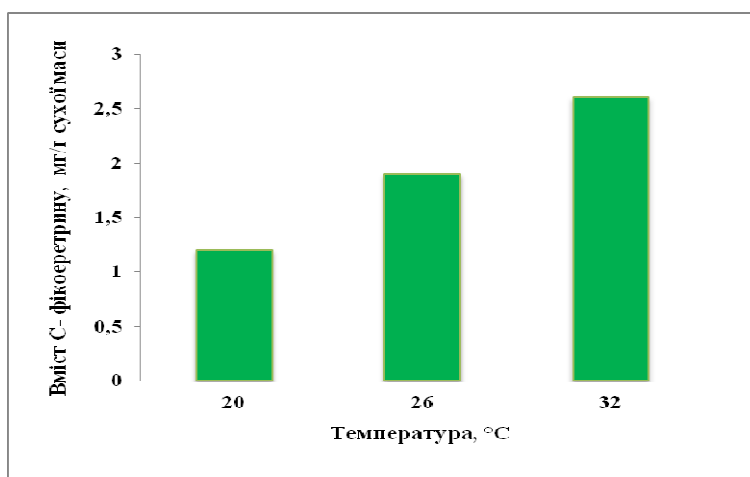


Рис. 1. Вміст С-фікоеритрину у біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за умов впливу різних температурних режимів культивування

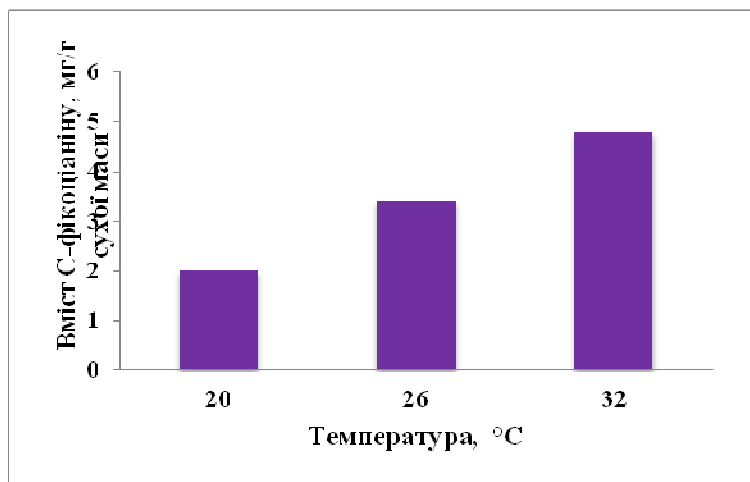


Рис. 2. Вплив температури культивування на концентрацію С-фікоціаніну у біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata*

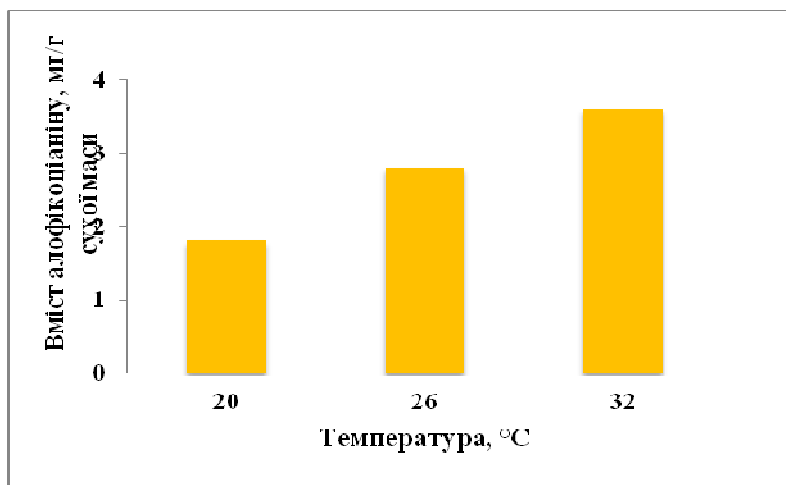


Рис. 3. Вміст алофікоціаніну у біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за умов впливу різних температурних режимів культивування

Встановлено, що загальний вміст фікобіліпротеїнів за дії температури 26 °C збільшився у 1,6 рази у порівнянні з культивуванням за температури 20 °C (рис. 4). Таким чином, отримані результати досліджень дають можливість стверджувати, що, змінюючи температуру вирощування, можна значно підвищити вміст фікобіліпротеїнів у біомасі синьозелених водоростей.

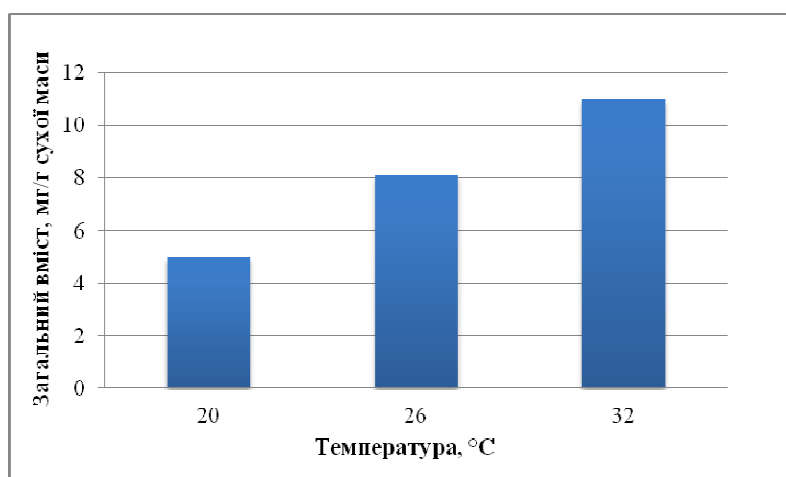


Рис. 4. Вплив різних температурних режимів на загальний вміст фікобіліпротеїнів у біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata*

Аналіз отриманих експериментальних даних свідчить про те, що при вирощуванні *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за температури 32 °C рівень внутрішньоклітинного вмісту досліджуваних фікобілінових пігментів значно

збільшився порівняно з показниками, що спостерігалися при культивуванні водорості як за температури 20 °С, так і за температури 26 °С (Рис. 1–3). Підвищення вмісту фікобіліпротеїнів за підвищення температури, можна пояснити тим, що вони виконують захисну функцію і виступають у ролі антиоксидантів [11]. В результаті проведених досліджень було встановлено, що за умов впливу температурного режиму 32 °С, у порівнянні з температурним режимом 20 °С, концентрація С-фікоеритрину підвищилася у 2,2 рази, а С-фікоціаніну та алофікоціаніну – у 2,4 та 2 рази відповідно.

Аналіз зміни значення досліджуваних показників, що спостерігалися за дії температури 32 °С у порівнянні з показниками, отриманими за дії температури 26 °С, показав, що більш висока температура індукувала зростання концентрації С-фікоеритрину та С-фікоціаніну у 1,4 рази, а алофікоціаніну – у 1,3 рази.

Встановлено, що загальний вміст фікобілінових пігментів у відповідь на дію температури 32 °С підвищувався відносно значень, зафіксованих за температури 20 °С, у 2,2 рази, тоді як у порівнянні з величинами, що спостерігалися за температури 26 °С – у 1,4 рази (Рис. 4).

ВИСНОВКИ

Температурний чинник суттєво впливає на внутрішньоклітинний вміст фікобіліпротеїнів у синьозелених водоростей.

Максимальний рівень вмісту фікобілінових пігментів (С-фікоеритрину, С-фікоціаніну, та алофікоціаніну) у біомасі *Phormidium autumnale* f. *uncinata* спостерігався при вирощуванні водорості за температури 32 °С, а мінімальний – за температури 20 °С.

При зміні температури культивування з 20 °С до 32 °С у досліджуваній ціанопрокаріоти найбільшою мірою підвищується концентрація С-фікоціаніну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ефимов А. А. Синезеленые водоросли гидротерм Камчатки как сырье для получения биологически активных веществ / А. А. Ефимов, М. В. Ефимова // *Фундаментальные исследования*. – 2007. – № 10. – С. 71–72.
2. Стадничук И. Н. Фикобилипротеины / И. Н. Стадничук // *Биологическая химия*. Т. 40. – М.: ВИНТИ, 1990. – 196 с.
3. Мусієнко М. М. Фізіологія рослин / М. М. Мусієнко. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 392 с.
4. Біохімія червоних водоростей / [Судьїна О. Г., Шнюкова Є. І., Мушак П. О. та ін.]. – К.: Наук. думка, 2007. – 320 с.
5. Лось С. И. Влияние мочевины на спектральные свойства фикобилиновых пигментов водорослей / С. И. Лось // *Альгология*. – 2009 . – Том 19, № 1. – С. 25–33.
6. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон – М.: Мир, 1986. – 422 с.
7. Поспелова Н. В. Содержание фикобилипротеинов в некоторых видах красных водорослей Черного моря / Н. В. Поспелова, М. В. Нехорошев // *Экология моря*. – 2002. – Вып. 61. – С. 78–80.
8. Ефимов А. А. Обоснование использования синезеленых водорослей для выделения хлорофилла и фикобилипротеинов как пищевых красителей и биологически активных веществ/ [А. А. Ефимов, Т. П. Белова, М. В. Ефимова] // *Фундаментальные исследования*. – 2007. – №11. – С. 77–80.
9. Водоросли: справочник / [Вассер С. П., Кондратьева Н. В., Масюк Н. П. и др.] – К.: Наукова думка, 1989 – 120 с.
10. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / [Сиренко Л. А., Сакевич А. И., Осипов Л. Ф. и др.] – К.: Наукова думка, 1975. – 247 с.
11. Pandey V. D. Biotechnological applications of cyanobacterial phycobiliproteins / [Pandey V. D., Pandey A., Sharma V.] // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. – 2013. – Vol. 2(9). – P. 89–97.

**СОДЕРЖАНИЕ ФИКОБИЛИПРОТЕИНОВ В БИОМАССЕ
СИНЕЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *PHORMIDIUM AUTUMNALE* F.
UNCINATA ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

**И. Н. НЕЗБЕРИЦКАЯ¹, А. В. КУРЕЙШЕВИЧ¹,
О. А. ВАСИЛЬЧЕНКО², А. Б. МИНЕНКО²**

¹ *Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев*

² *Национальный авиационный университет, г. Киев*

*Исследовано влияние температуры на синтез фикобилипротеинов синезеленой водорослью *Phormidium autumnale* f. *uncinatum*. Выявлено существенное увеличение содержания С-фикоэретрина, С-фикоцианина и аллофикоцианина в биомассе водоросли при температуре 32 °С. Минимальные значения этих показателей наблюдались при температуре 20 °С.*

Ключевые слова: *синезеленые водоросли, температурный режим, фикобилипротеины, С-фикоэретрин, С-фикоцианин, аллофикоцианин.*

***PHYCOBILIPROTEINS CONTENT IN CYANOBACTERIA PHORMIDIUM
AUTUMNALE F. UNCINATA BIOMASS AT CULTIVATION TEMPERATURE
VARIATION***

***I.M. NEZBERYTSKA¹, A.V KUREYSHEVYCH¹,
O. A. VASYLCHENKO², A. B. MYNENKO²***

¹ *Institute of Hydrobiology of NAS of Ukraine, Kyiv*

² *National Aviation University, Kyiv*

*Effect of cultivation temperature regime (20, 26 and 32 °C) for phycobiliproteins synthesis in cyanobacteria *Phormidium autumnale* f. *uncinatum* is investigated. Significant increase of C-phycoerythrin, C-phycocyanins and*

allophyocyanins content in cyanobacteria biomass at temperature of 32 °C is revealed. The minimum values of these parameters were observed at 20 °C.

Keywords: *cyanobacteria, temperature regime, phycobiliproteins, C-phycoerythrin, C-phycocyanin, allophycocyanin.*